TAXiden®

Système d'identification
LISTERIA

Notice d'utilisation

i2a ■ Parc Eurêka ■ 401 avenue du Walhalla ■ CS83406
34060 MONTPELLIER Cedex ■ France
Tél : +33 (0)4 67 50 48 00 ■ Fax : +33 (0)4 67 17 09 06
e-mail : i2a@i2a.info ■ **www.i2a.info**

Notice d'utilisation

TAXiden® Listeria

Réf : FP-0133
Validé : 30/10/13

Usage prévu

TAXiden® Listeria est un système prévu pour être utilisé par du personnel de laboratoire formé, en milieu aseptisé et avec les précautions microbiologiques adéquates.

TAXiden® Listeria est une galerie de 12 puits contenant des substrats destinés à l'identification du genre **Listeria** :

Listeria monocytogenes
Listeria welshimeri
Listeria ivanovii
Listeria innocua
Listeria grayi
Listeria seeligeri

Définition des pictogrammes utilisés

« Fabricant »
IVD « Dispositif Médical de Diagnostic In Vitro »
REF « Référence du catalogue »
LOT « Code du lot »
« Utiliser jusque »
« Limites de température »
« consulter le manuel d'utilisation »

Présentation du produit

REF	
010006	Coffret contenant • Support de galeries TAXiden Listeria • Notice d'utilisation avec abaques • Tableau d'enregistrement des résultats • 20 flacons de bouillon pour suspension • 1 flacon pour étude de l'hémolyse • 20 galeries en sachet individuel

Mode Opératoire simplifié

	LISTERIA
SELECTION	Bacille gram +, oxydase -, catalase +, latex , mobile à 25°C et immobile à 37°C
INOCULUM	Mettre 1 colonie dans bouillon (2.5ml) nb : Le bouillon doit être à température ambiante avant ensemencement.
INOCULATION	4 gouttes (100µl) par puits nb: Pour vérifier la pureté : Mettre 1 goutte de bouillon sur gélose non sélective dans conditions incubation standard.
REACTIFS ADDITIONNELS	Puits 12 – 1 Goutte de réactif d'hémolyse
TEMPS D'INCUBATION	18 - 24 heures
TEMPERATURE	35 - 37°C
LECTURES FINALES	Lecture des plaques via logiciel TAXiden Lecture du test d'hémolyse (détails ci-dessous)

Note ***Test hémolyse négatif : tapis de globules rouges ou couche distincte***
Test hémolyse positif : absence de tapis globules rouges ou couche distincte

Notice d'utilisation

TAXiden® Listeria

Réf : FP-0133
Validé : 30/10/13

Principe du test

Chaque galerie TAXiden® Listeria contient 11 substrats déshydratés pour l'exécution des tests d'utilisation des glucides et une cupule vide pour l'exécution d'une réaction hémolyse (4). La sélection des substrats est recommandée dans la norme de méthodes internationales (1,2,3) ainsi que d'autres tests qui confirment l'appartenance au genre Listeria (hydrolyse esculine, La fermentation du tréhalose et arabitol (5,6) et / ou permet d'améliorer la différenciation des diverses espèces que comprend le genre.

L'Identification des souches se fait par l'enregistrement des résultats visualisés par un changement de couleur après 18-24 heures d'incubation (Cette galerie ne nécessite pas ajout de réactifs additionnels). Ces résultats sont ensuite analysés avec le logiciel TAXiden®.

Chaque galerie TAXiden® Listeria se compose de douze puits. 11 puits contenant des substrats pour des réactions biochimiques :

		Réaction	Positive	Négative
1	Esculine	Hydrolyse esculine	Noir	Jaune paille
2	Mannitol	La fermentation des sucres se traduit par l'acidification du milieu. L'indicateur coloré (BCP) passe du violet au jaune	Jaune	Violet
3	Xylose			
4	Arabitol			
5	Ribose			
6	Rhamnose			
7	Trehalose			
8	Tagatose			
9	Glucose-1-Phosphate			
10	Methyl-D-Glucose			
11	Methyl-D-Mannose			
12	Hémolyse	Hémolyse des globules rouge de mouton	Couleur homogène marron. Absence tapis de globules rouges au fond de la cupule	Solution claire au dessus d'un tapis de globules rouges

Le puits N°12 est vide, car utilisé pour la réaction d'hémolyse directement dans le puit lorsque le réactif d'hémolyse est ajouté dans la suspension bactérienne.

Autres conditions requises:

1. Logiciel d'identification TAXiden® - Fournit une identification basée sur la probabilité, le % de probabilité et de la probabilité d'une analyse de la qualité de différenciation.
2. Pipettes stériles et oeses stériles
3. Incubateur (35-37 ° C), sans ventilation
4. Réfrigérateur (2-8°C)
5. Stylo ou marqueur
6. Oxydase
7. Péroxyde d'hydrogène pour test de catalase
8. Réactifs pour coloration de Gram
9. Microscope et lames pour microscope
10. Incubateur à 25°c sans ventilation

Stockage et durée de vie :

Les galeries TAXiden® Listeria sont stables dans les sachets non ouverts et conservés à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.
Le bouillon pour suspension et le réactif pour étude de l'hémolyse doivent être conservés entre 2-8°C. Le réactif pour l'étude de l'hémolyse doit mis à 2-8°C immédiatement après utilisation.

Procédure - inoculation et incubation :

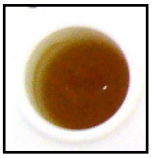
1. Sélection des colonies pour l'identification
   - Les souches peuvent être testées à partir de n'importe quel milieu (sélectif ou pas).
   - Avant inoculation de la galerie TAXiden® Listeria, les souches doivent être vérifiées pour s'assurer de l'appartenance au genre Listeria (Petit bacille gram +, oxydade négative, catalase positive, mobiles à 25°C et immobiles à 37°C.

2. Préparation de l'inoculum :
   - Mettre le bouillon de la suspension à température ambiante avant inoculation.

- Sélectionner une colonie bien isolée à partir d'une culture de 18-24 heures et émulsionner la colonie dans flacon de bouillon (2.5ml) contenu dans le coffret.
- Mélanger soigneusement la suspension.

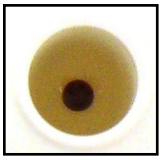
3. Inoculation et incubation
   - Sortir la galerie de son emballage, enlever le couvercle.
   - Déposer 100 µl de la suspension bactérienne dans chaque puits de la galerie.
   - Pour vérifier la pureté, déposer une goutte de suspension bactérienne sur une gélose non sélective. Incuber les géloses à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.
   - Ajouter une goutte de réactif d'hémolyse dans la cupule 12.
   - Remettre le couvercle sur la galerie et incuber la galerie à 35 - 37°C pendant 18- 24 heures.

4. Interprétation
   - Après incubation, enlever le couvercle, lire et enregistrer les résultats sur les formulaires de rapport.
   - Reportez vous au tableau pour l'interprétation des résultats.
   - La réaction d'hémolyse doit interprèté de la façon suivante:
     - Examiner le fond de la cupule et noter la présence d'une couche ou un tapis de globules rouge. Dans ce cas le test doit être interprété comme négatif. L'absence de tapis ou bouton de globules rouge est considéré comme un test positif.
     - Examiner l'aspect de l'inoculum dans le puits. La présence d'une solution claire au dessus du bouton de globules rouges dans le fond de la galerie, doit être interprétée comme un test négatif. La présence d'une couleur jaune paille – brune et l'absence d'un bouton de globules rouge doit être interprété comme un test positif.
     - Si le test est difficile à lire, il est suggéré de lire la galerie sous une source lumineuse.



Test d'hémolyse positive -

Suspension jaune _ brune avec absence de bouton de globules



Test d'hémolyse négative-

Solution claire différenciée du bouton de globules rouge

- Examiner la pureté de la gélose
- Sur le formulaire de résultats TAXiden® Listeria, les substrats ont été organisés en triplettes (3 séries de réactions). A chaque substrat est attribuée une valeur numérique (1, 2 ou 4). La somme des réactions positives pour chaque triplette constitue l'un des chiffres du code octal utilisé pour déterminer l'identification de l'espèce. Ce code est entré dans le système d'identification TAXiden®, qui génère un rapport de 3 organismes les plus probables identifiés dans la base de données.

Exemple de formulaire de résultats:

Saisie des Résultats–Result Form
EN-0134.doc, 02.03.09

TAXiden® Listeria

N° de demande – *Lab No* :
……

Origine du Prélèvement – *Specimen type* : ……

Date : ……

				LISTERIA											
N° puits – Well No				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	OX	CAT	LAT	ESC	MAN	XYL	ARL	RIB	RHA	TRE	TAG	G1P	MDG	MDM	HEM
Résultat- *Result*															
Cotation	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Σ reactions +															

Code obtenu - *Profile No* :……..… Identification :……

Mises en garde et précautions

Mesures de sécurité:

1. Le système TAXiden® Listeria doit être utilisé par du personnel qualifié du laboratoire et respectant les techniques et précautions d'asepsies microbiologiques

les matériaux utilisés doivent être éliminés en toute sécurité par autoclavage, incinération ou immersion dans un désinfectant approprié avant leur élimination

2. Les matériaux utilisés doivent être éliminés en toute sécurité par autoclavage, incinération ou immersion dans un désinfectant approprié avant leur élimination.
3. Les galeries et les couvercles ne sont pas complètement sceller car les galeries ne doivent pas être incubés dans un incubateur de CO2 (problème de ph) ou un incubateur ventilé (évaporation excessive).
4. Le réactifs pour le recherche d'hémolyse doit être manipulé en respectant les règles de techniques microbiologiques afin d'éviter toute contamination :
   - Toujours conserver le réactif à 2-8°C
   - Eviter le contact du compte goutte avec support galerie ou autre support. En cas de contact avec une source contaminée, il est préférable de le changer.

Le réactif pour la recherche d'hémolyse ne doit pas être utilisé dans le cas de suspicion de détérioration ou contamination. Les signes de détérioration se traduisent par une modification de couleur du milieu. Le passage du rouge au brun doit faire suspecter une dégradation du milieu. Dans ce cas le produit ne doit pas être utilisé.

Si le résultat du test d'hémolyse n'est pas clair, la recherche d'hémolyse peut se faire sur une gélose au sang de mouton incubé à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

Limites d'utilisation

1. Bien que les milieux sélectifs pour l'isolement de Listeria spp sont formulés pour inhiber la pousse de nombreuses espèces, d'autres espèces peuvent éventuellement poussées (Bacillus spp, Enterococcus spp et Staphylococccus spp).
2. Le système TAXiden® Listeria est conçu pour identifier les organismes appartenent au genre Listeria et pas à autres genres. En cas de doute sur certains tests (hydrolyse esculine, fermentation des sucres), il est souhaitable de refaire une coloration de gram, mobilité, oxydase et catalase.
3. Ne tester que des colonies uniques et pures, dans la mesure où des colonies mélangées peuvent donner des résultats erronés.
4. L'inoculation d'une gélose est recommandée car elle confirme la pureté de l'inoculum.

Contrôles Qualité

Le système d'identification TAXiden® doit être contrôlé en utilisant des souches de contrôle appropriées. Les cultures suivantes sont recommandées pour le laboratoire.

	ESC	MAN	XYL	ARL	RIB	RHA	TRE	TAG	G1P	MDG	MDM	HEM
L.monocytogenes (ATCC 35152, NCTC 7973)	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+
L.inoccua (ATCC 33090, NCTC11288)	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-
L..grayi (ATCC 19120, NCTC 10815)	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-

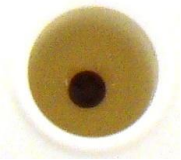
Base de données

Le système d'identification TAXiden® Listeria est fondé sur des méthodes de tests biochimiques. Les données fournies pour l'interprétation des profils de réaction est basée sur de sources de la littérature reconnues (2,3,4,5).

	ESC	MAN	XYL	ARL	RIB	RHA	TRE	TAG	G1P	MDG	MDM	HEM
L.monocytogenes	100	0	0	97	0	98	97	0	2	99	98	99
L.inoccua	100	0	1	100	0	70	100	0	0	100	100	0
L.welshimeri	100	0	95	100	0	87	100	94	0	98	94	0
L.seeligeri	100	0	100	100	0	0	97	0	0	100	5	93
L.ivanovii	100	0	97	100	42	5	86	0	92	95	0	90
L.grayi	100	97	0	100	100	0	98	0	0	30	94	0

Le nombre indique le pourcentage de souches positives.
Les colonnes grisées sont des tests de confirmation du genre Listeria spp

ABAQUE DES COULEURS

Puits	1	2 to 11	12
Réaction	**Hydrolyse Esculine**	**Carbohydrate Fermentation**	**Haemolysine**
Négative			
Positive			

ATTENTION – ne pas exposer à un éclairage naturel direct: la lumière provoque une modification des couleurs et une altération du papier. Les couleurs de ce référentiel pourraient être faussées.

Ces couleurs constituent un guide de classification des couleurs obtenues.

Saisie des Résultats–Result Form

EN-0134.doc, 02.03.09

TAXiden® Listeria

N° de demande – *Lab No* :

……

Origine du Prélèvement – *Specimen type* : ……

Date : ……..……..

				LISTERIA											
N° puits – Well No				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	OX	CAT	LAT	ESC	MAN	XYL	ARL	RIB	RHA	TRE	TAG	G1P	MDG	MDM	HEM
Résultat-*Result*															
Cotation	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Σ reactions +															

Code obtenu - *Profile No* :……..… Identification :……